SNI

Standar Nasional Indonesia

SNI 7545.2:2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 2: *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae*

ICS 65.150

Badan Standardisasi Nasional

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi i
Prakata ii
1 Ruang lingkup 1
2 Istilah dan definisi 1
3 Prinsip 2
4 Peralatan 2
5 Bahan 3
6 Prosedur 3
7 Pelaporan 6
8 Keamanan dan Keselamatan kerja 6
Lampiran A (normatif) Pembuatan media 8
Lampiran B (normatif) Pembuatan pereaksi 11
Bibliografi 14

Tabel 1 - Karakteristik bakteri *Mycobacterium fortuitum* dan *M. chelonae* 6

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas dan jaminan mutu komoditas perikanan serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian laboratorium uji, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode identifikasi bakteri *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae* pada ikan secara konvensional.

Standar ini dirumuskan oleh Subpanitia Teknis 65-05-S2 Perikanan Budidaya dan telah dibahas dalam rapat-rapat teknis dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 25 Agustus 2008 di Bogor dengan memperhatikan:

1. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
2. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 2 April 2009 sampai dengan 2 Juni 2009 dengan hasil akhir RASNI.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 2: *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae*

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode identifikasi bakteri *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae* pada ikan secara konvensional.

2 Istilah dan definisi

2.1
***Gram* positif**
hasil pewarnaan *Gram* yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu

2.2
ikan besar
ikan yang sudah dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.3
ikan kecil
ikan yang tidak dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.4
inkubasi
pengkondisian lingkungan untuk tumbuh dan berkembangbiak sehingga bakteri dapat tumbuh dan menunjukkan karakteristik sesuai dengan yang dikehendaki

2.5
inokulasi
menumbuhkan bakteri dari satu media ke media lain

2.6
isolasi
pemisahan bakteri dari organ target ikan dengan menumbuhkan pada media agar

2.7
isolat murni
bakteri hasil pemurnian dari koloni yang terisolir

2.8
metode konvensional
penentuan bakteri melalui uji fisika, uji morfologi dan uji biokimia

2.9
media
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri

2.10
media selektif
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan bakteri tertentu

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

2.11
media semi solid
formula bahan yang digunakan untuk melihat pertumbuhan dan/atau motilitas dari bakteri yang diisolasi

2.12
metode konvensional
penentuan bakteri melalui uji fisika, uji morfologi dan uji biokimia

2.13
mikroorganisma
organisma yang berukuran kecil dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop

2.14
motilitas
kemampuan gerak bakteri

2.15
Mycobacterium
penyebab infeksi kronik sampai sub akut pada berbagai jenis ikan air tawar maupun laut

2.16
organ target
organ yang menjadi sasaran serangan bakteri

2.17
pewarnaan *Gram*
uji untuk membedakan sifat dinding sel bakteri

2.18
uji morfologi sel
uji yang dilakukan untuk mengetahui ukuran dan bentuk bakteri dengan menggunakan mikroskop

2.19
uji fisika
uji yang dilakukan untuk melihat ketahanan bakteri terhadap kondisi tertentu

2.20
uji biokimia
uji yang dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia

3 Prinsip

Mengisolasi dan memurnikan bakteri pada media selektif kemudian diidentifikasi secara uji morfologi, fisika dan biokimia.

4 Peralatan

a) *autoclave*;
b) botol semprot;
c) *Bunsen burner*;
d) cawan petri;

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

e) gelas objek;
f) *hot plate* & *magnetic stirrer*;
g) inkubator;
h) jarum *Őse*;
i) kaca penutup (*cover glass*);
j) labu *erlenmeyer*;
k) meja bedah;
l) mikroskop;
m) *mortar* dan *grinder*;
n) *oven*;
o) peralatan bedah;
p) pipet tetes;
q) pipet berskala (ukur);
r) preparat cekung tengah (*single concave slide*);
s) rak tabung reaksi;
t) tabung reaksi;
u) timbangan analitik dengan ketelitian 0,01 g;
v) *uv laminarflow-hood (biological safety cabinet)*;
w) *vortex mixer.*

5 Bahan

a) akuades;
b) alkohol 70 %;
c) alkohol *absolut*;
d) alumunium *foil*;
e) *filter paper* dan/atau *stik* untuk *sitochrom oksidase*;
f) media O/F basal;
g) media *phenol red broth base*;
h) media selektif *Ogawa Egg* Agar atau media selektif Sauton's agar atau media selektif *Lowenstein-Jensen*;
i) media *Sulphide Indole Motility* (SIM) atau media *Motility Indol Orthinin* (MIO);
j) media *Triple Sugar Iron* Agar (TSIA);
k) minyak emersi;
l) NaCl 5 %;
m) parafilm;
n) parafin *oil* steril;
o) pewarna *Gram*;
p) pereaksi reduksi nitrat;
q) pereaksi *sitochrom oksidase (tetramethyl-p-penylene diamine dihydrochloride)*;
r) pewarna tahan asam (*Ziehl-Neelsen*);
s) serbuk Zn;
t) vaselin.

6 Prosedur

6.1 Preparasi contoh

Ikan besar

- Bersihkan permukaan tubuh ikan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70 %.
- Bedah ikan dengan menggunakan peralatan bedah steril.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

- Secara aseptis, tusukkan jarum *Őse* ke organ target yang menunjukkan adanya *tubercle* dari organ limpa, mata, ginjal dan darah. Kecuali darah diambil dengan menggunakan alat suntik steril, kemudian siap dilakukan isolasi.

Ikan kecil atau telur

- Ambil contoh dibilas dengan menggunakan akuades steril minimal 3 kali, kemudian ikan digerus, siap untuk diisolasi.

6.2 Isolasi bakteri

a) Bersihkan permukaan meja kerja dengan alkohol 70 %.
b) Secara aseptis, tusuk organ target menggunakan jarum *Őse,* kemudian goreskan ke media selektif.
c) Secara aseptis, teteskan darah di atas media selektif kemudian digoreskan menggunakan jarum *Őse*.
d) Secara aseptis, ambil hasil gerusan ikan kecil atau telur dengan jarum *Őse* kemudian goreskan ke media selektif.
e) Segel cawan petri yang berisi biakan bakteri dengan parafilm.
f) Inkubasikan biakan bakteri pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 1 minggu - 3 minggu.

6.3 Pemurnian bakteri

a) Ambil koloni yang tumbuh terpisah di dalam goresan yang diduga *Mycobacterium* spp. (pada media *Ogawa Egg* koloni berwarna krem, pada media Souton berwarna krem dan pada media *Lowenstein-Jensen* berwarna kuning) untuk selanjutnya dimurnikan dalam media selektif.
b) Kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Apabila hasil pemurniannya diperoleh koloni yang seragam maka diteruskan dengan uji lanjutan.

6.4 Tahap analisa

6.4.1 Pewarnaan *Gram*

a) Siapkan gelas objek yang telah dibersihkan dari lemak dengan alkohol 70 % dan diberi label;
b) Teteskan 1 tetes akuades steril pada permukaan gelas objek.
c) Ambil isolat dengan jarum *Őse steril*, campur dengan akuades dan diulas merata pada permukaan gelas objek.
d) Fiksasikan dengan melewatkan preparat di atas api (jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering.
e) Teteskan larutan *crystal violet* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit.
f) Cuci dengan air mengalir.
g) Teteskan larutan *iodine lugol* pada preparat sampai merata, dan diamkan selama 1 menit.
h) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
i) Teteskan larutan alkohol *aseton* pada preparat sampai merata dan diamkan maksimal 30 detik.
j) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
k) Teteskan larutan *safranin* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 2 menit.
l) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
m) Amati preparat menggunakan mikroskop.
n) Sifat bakteri *Gram* positif ditandai dengan sel bakteri berwarna ungu.
o) Sifat bakteri *Gram* negatif ditandai dengan sel bakteri berwarna merah.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

6.4.2 Pewarnaan *Ziehl-Neelsen*

a) Ambil dan oleskan isolat di atas gelas obyek yang bersih dan keringkan.
b) Fiksasi dengan melewatkan gelas objek diatas nyala api sebanyak 3 kali - 4 kali.
c) Tambahkan larutan *phenol-fuchsin* pada gelas obyek dan panaskan sampai mengeluarkan uap (tidak boleh sampai mendidih atau kering).
d) Diamkan pada suhu kamar selama 4 menit - 5 menit hingga uapnya hilang.
e) Cuci gelas obyek pada air mengalir.
f) Tambahkan larutan asam *hidrokhlorat*-alkohol pada gelas obyek selama 1 menit.
g) Warnai dengan larutan metilen biru *buffer* selama 2 menit.
h) Bilas gelas obyek dengan air, keringkan dan amati dengan mikroskop pada pembesaran 1000 kali dengan menambahkan minyak emersi.
i) Dinding sel bakteri tahan asam (positif) ditandai dengan sel berwarna merah.

6.4.3 Uji motilitas

6.4.3.1 Media semisolid

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* lurus dan inokulasikan dengan menusukkan pada media semi solid (media SIM atau media MIO).
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 24 jam - 48 jam.
c) Reaksi negatif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar.
d) Reaksi positif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar.
e) Uji motilitas dapat juga dilakukan dengan uji tetes bergantung.

6.4.3.2 Uji tetes bergantung

a) Inokulasikan dan campurkan satu koloni bakteri dengan akuades dan teteskan pada kaca penutup (*cover glass*).
b) Kaca penutup (*cover glass*) diberi vaseline pada keempat sudutnya kemudian teteskan sediaan bakteri dan tutupkan di atas preparat cekung tengah tersebut.
c) Amati motilitas (pergerakan) bakteri dengan mikroskop pada pembesaran 400 kali.

6.4.4 Uji *sitochrom oksidase*

a) Basahi kertas saring dengan pereaksi *oksidase* atau langsung menggunakan *filter paper* atau stik.
b) Ambil 1 *loop* isolat bakteri dengan jarum *Őse* (*Őse platinum atau Őse plastic disposable*), goreskan pada kertas saring yang sudah diberi pereaksi *oksidase* atau gunakan stik *oksidase*.
c) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kertas saring dan positif jika terjadi perubahan warna biru keunguan pada goresan dalam waktu singkat.

6.4.5 Uji Oksidatif - Fermentatif

a) Siapkan 2 tabung berisi media O/F basal.
b) Ambil isolat bakteri dengan jarum *Őse* lurus steril.
c) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam tabung yang berisi media O/F basal dengan cara ditusukkan.
d) Satu tabung diisi dengan parafin cair steril hingga ketinggian 1 cm di atas permukaan media O/F, sedangkan tabung lainnya tanpa parafin cair.
e) Inkubasikan pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 24 jam - 48 jam.
f) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kedua tabung reaksi.
g) Reaksi oksidatif positif jika terjadi perubahan warna media pada tabung tanpa parafin dari hijau ke kuning.
h) Reaksi fermentatif positif jika terjadi perubahan warna dari hijau ke kuning pada tabung yang tertutup parafin.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

6.4.6 Produksi asam dari *sukrosa*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *sukrosa*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

6.4.7 Uji reduksi nitrat

a) Inokulasikan biakan bakteri pada medium *nitrat broth* dengan menggunakan jarum *Őse*.
b) Inkubasi selama 24 jam.
c) Tambahkan 5 tetes *sulphanilic acid* dan 5 tetes α-*naphthylamine*.
d) Amati perubahan warna yang terjadi, untuk memperjelas ditambah serbuk Zn.
e) Reaksi positif jika terbentuk warna merah dan reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna.

6.4.8 Pertumbuhan pada NaCl 5 %

a) Inokulasikan biakan bakteri pada media selektif (*Ogawa Egg* Agar atau Sauton's agar atau *Lowenstein-Jensen)* + NaCL 5 %, dengan menggunakan jarum *Őse*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 37 °C selama 24 jam. Amati pertumbuhan bakteri.
c) *Mycobacterium fortuitum* tumbuh pada NaCL 5 %, sedangkan *Mycobacterium chelonae* tidak tumbuh.

7 Pelaporan

Bakteri *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae* memiliki beberapa karakteristik seperti pada Tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1 Karakteristik bakteri *Mycobacterium fortuitum* dan *Mycobacterium chelonae*

No	Test	Karakteristik	
		M. fortuitum	***M. chelonae***
1	Media selektif (*Ogawa* atau *Sautons* atau *Lowenstein-Jensen*)	tumbuh baik dalam waktu 1 minggu - 3 minggu	tumbuh baik dalam waktu 1 minggu - 3 minggu
2	Pewarnaan *Gram*	*Gram* positif	*Gram* positif
3	Pewarnaan *Ziehl-Neelsen*	Positif	Positif
4	Uji motilitas	Negatif	Negatif
5	Uji tetes bergantung	Tidak ada pergerakan	Tidak ada pergerakan
6	Uji *sitochrom oksidase*	Negatif	Negatif
7	Uji oksidatif-fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
8	Pada suhu 25 °C	Tumbuh	Tumbuh
9	Pada suhu 37 °C	Tumbuh	Tidak tumbuh
10	Uji penggunaan (*utilization*) sukrosa	Positif	Negatif
11	Uji reduksi nitrat	Positif	Negatif
12	Pertumbuhan pada NaCl 5 %	Tumbuh	Tidak tumbuh

8 Keamanan dan Keselamatan kerja

a) Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisis.
b) Gunakan jas laboratorium selama melakukan analisis.

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

c) Bersihkan meja kerja sebelum dan sesudah melakukan analisis.
d) Bersihkan segera contoh yang tercecer dan mengandung bakteri menggunakan bahan desinfektan.
e) Media yang sudah digunakan disterilkan terlebih dahulu sebelum dibuang.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Lampiran A
(normatif)
Pembuatan media

A.1 Media *Ogawa egg* agar (Tsukamura 1967)

Bahan:

Sodium glutamat	1 g
Potasium dihydrogen phospat	1 g
Akuades	100 ml
Telur	200 ml
Gliserol	6 ml
Malachite green	6 ml dari 2 % (w/v) *solution*

Cara membuat:

a) Masukkan *sodium glutamat* dan *potassium dihydrogen phospat* ke dalam akuades.
b) Campurkan dan kocok hingga pH 6,8.
c) Simpan pada suhu 90 °C selama 1 jam.

A.2 Media *Shauton's* agar

Bahan:

Gliserol	50 ml
Sodium glutamate	4 g
Kalium dihidrogen pospat ($KH_2 PO_4$)	0,5 g
Magesium sulfat ($MgSO_4 7H_2O$)	0,5 g
Sodium citrate	2 g
Feric ammonium citrate	0,05 g
Agar (*bacto* agar)	30 g
Akuades	950 ml

Cara membuat:

a) Masukan akuades dan *gliserol* di ke dalam tabung *shoots* atau labu *erlenmeyer*.
b) Timbang semua bahan sesuai takaran.
c) Masukan bahan media ke dalam tabung yang berisi akuades dan gliserol.

A.3 Media O/F basal

Bahan:

Peptone	2 g
NaCl	5 g
K_2HPO_4	0,3 g
Agar	3 g
Akuades	1 l
Bromthymol blue 0,2 % aq. soln	15 ml

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

a) Panaskan semua bahan sambil diaduk.
b) Tambahkan larutan indikator dan sterilisasi pada suhu 115 °C selama 20 menit;
c) Tambahkan 1 % larutan karbohidrat steril (*glukose*).
d) campurkan dan tuang 1,5 ml kedalam tabung reaksi, pH akhir 7,1.

A.4 Media *Sulphide Indole Motility* (SIM)

Bahan:

Meat extract	3 g
Tryptone	30 g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	0,5 g
Cysteine hydrochloride	0,2 g
NaCl	5 g
Agar	5 g
Akuades	1 l

Cara membuat:

a) Panaskan sambil diaduk dan didihkan selama 1 menit - 2 menit untuk melarutkan agar.
b) Tuang pada tabung reaksi atau *tube* dan sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.5 Media *Motility Indol Orthinin* (MIO)

Bahan:

Agar MIO	31 g
Akuades	1000 ml

Cara membuat:

a) Masukkan MIO ke dalam labu *erlenmeyer* menggunakan *stirer magnetic* dan tambahkan 1000 ml air.
b) Panaskan di dekat *hot plate* hingga mendidih.
c) Sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.
d) Bagi ke dalam tabung reaksi yang sudah steril.

A.6 Media Nitrat *Broth* (NB)

Bahan:

KNO_3	1 g
Nutrient broth	1000 ml

Cara membuat:

a) Larutkan KNO_3 dalam *Nutrient broth* masukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi tabung *Durham*.
b) Strerilisasikan pada suhu 115 °C selama 20 menit.

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.7 Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Bahan:

Meat ekstrak	3 g
Yeast ekstrak	3 g
Peptone	20 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Ferric citrate	0,3 g
NaCl	5 g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	0,3 g
Agar	20 g
Akuades	1 l
Phenol red 0,2 % aq. Soln	12 ml

Cara membuat:

a) Panaskan sambil diaduk dan didihkan selama 1 menit - 2 menit untuk melarutkan agar.
b) Tambahkan larutan indikator, aduk dan tuang pada *tube* atau tabung reaksi.
c) Sterilisasikan pada suhu 115 °C selama 20 menit.
d) Dinginkan agar pada posisi kemiringan 45° biarkan beku dan simpan dalam *refrigerato*r.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Lampiran B
(normatif)
Pembuatan pereaksi

B.1 Pereaksi pewarnaan *Gram*

B.1.1 Larutan *cristal violet*

Bahan:

Cristal violet	2 g
Etanol (95 %)	20 ml
Ammonium oxalat	0,8 g
Akuades	80 g

Cara membuat:

a) Larutkan *crystal violet* ke dalam etanol.
b) Larutkan *ammonium oxalat* ke dalam akuades.
c) Campurkan kedua larutan, biarkan selama 24 jam dan kemudian disaring.

B.1.2 Larutan *iodine lugol*

Bahan:

Iodine	1 g
Potassium iodide	2 g
Akuades	300 ml

Cara membuat:

a) Larutkan *potassium iodide* ke dalam 20 ml akuades.
b) Tambahkan *iodine* dan biarkan selama semalam.
c) Tambahkan sisa akuades.

B.1.3 Larutan penjernih

Bahan:

Ethanol	95 ml
Acetone	5 ml

Cara membuat:

Campurkan e*thanol* dan *acetone.*

B.1.4 Larutan *safranin*

Bahan:

Safranin	0,25 g
Ethanol (95 %)	10 ml
Akuades	90 ml

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

Larutkan *safranin* ke dalam *ethanol* dan tambahkan akuades.

B.2 Pereaksi Pewarnaan *Ziehl-Neelsen,* terdiri dari:

B.2.1 *Phenol - Fuchsin solution*

Bahan:

Basic fuchsin (*colour index 42510*)	1 g
Ethanol (95 %)	10 ml
Phenol	5 g
Akuades	100 ml

Cara membuat:

a) Larutkan *basic fuchsin* dalam *ethanol* dan biarkan semalam.
b) Larutkan *phenol* dalam akuades.
c) Campurkan kedua larutan dan saring.

B.2.2 Asam *hidroklorat* alkohol

Bahan:

Concentrated hydrochloric acid	3 ml
Methylated spirits (*ethanol* 95 %)	97 ml

Cara membuat:

Campurkan *concentrated hydrochloric acid* dan *methylated spirits* (*ethanol* 95 %)

B.2.3 Larutan *methylen* biru *buffer*

Bahan:

Methylen blue	0,5 %
Malachite green	0,5 %

Cara membuat:

a) Larutkan *methylen* biru dalam 30 ml *ethanol*.
b) Campurkan dengan 100 ml kalium hidroksi 0,01 %.

B.3 Pereaksi *sitochrom oksidase*

Bahan:

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1 ml
Akuades	99 m

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

Larutkan *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride* ke dalam akuades.

B.4 Pereaksi reduksi nitrat

Bahan:

0,8 % *sulfanilic acid* dalam 5 N *acetic acid*
0,6 % *α-naphthylamine* dalam 5 N *acetic acid*
Serbuk zink

B.5 Pereaksi produksi asam

Bahan:

Sucrose
Phenol Red Broth Base

Cara membuat:

a) Larutkan *phenol red broth* sebanyak 1,6 % (w/v) dalam akuades.
b) Sterilisasi dengan *autoclave* suhu 121 °C selama 15 menit.
c) Setelah suhu kurang lebih 60 °C tambahkan *sucrose* 5 g/l - 10 g/l. Distribusikan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung *Durham*.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Bibliografi

Aquatic Animal Health Research Institute (AAHRI). *Diagnostic Procedures for Finfish Diseases*. Departement of Fisheries Kasetsart University Campus Bangkok. Thailand. 1999.

Buller, N. B.2004. *Bacterial From Fish And Other Aquatic Animals : A Practical Identification Manual*. Nicolas Frerich G. BVMS, PhD, MRCVS, Dip. Bact dan Stuart D. Millar, C biol, MLBiol. *Manual for The Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens*. Institut Aquaculture, University of Stirling. Scotland. 1993

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id

© BSN 2009